

氏 名	東 森 啓	
学 位 の 種 類	博士 ( 医 学 )	
学 位 記 番 号	第 6274 号	
授 与 報 告 番 号	甲第 3559 号	
学位授与年月日	平成 28 年 3 月 22 日	
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者	
学 位 論 文 名	<b>Mechanisms of NLRP3 Inflammasome Activation and its Role in NSAID-induced Enteropathy</b> <b>(非ステロイド系抗炎症薬起因性小腸傷害における NLRP3 インフラマソーム活性化機構とその役割)</b>	
論 文 審 査 委 員	主 査 荒川 哲男 教授	副 査 平川 弘聖 教授
	副 査 中嶋 弘一 教授	

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目的】

非ステロイド系抗炎症薬 (NSAID) 起因性小腸傷害の発症に interleukins (ILs)などの炎症性サイトカインが関与していることが知られている。インフラマソームは、caspase-1 活性化により IL-1 $\beta$  前駆体を成熟型 IL-1 $\beta$ に変換し、細胞外への分泌を誘導する、細胞質内タンパク質複合体である。本研究では、NSAID 起因性小腸傷害における IL-1 $\beta$ と NLRP3 インフラマソームの役割について検討した。

### 【方法】

NSAIDs 小腸傷害は非絶食マウスにインドメタシンを経口投与することにより惹起した。インフラマソーム構成分子および炎症関連因子の発現は定量的 PCR 法で、活性型 caspase-1 と成熟型 IL-1 $\beta$ の発現は Western Blotting 法により検討した。

### 【結果】

インドメタシンの投与は小腸に潰瘍性病変を惹起し、さらに小腸組織における IL-1 $\beta$ 、NLRP3 mRNA および活性型 caspase-1、成熟型 IL-1 $\beta$ の発現を増加させた。IL-1 $\beta$ 中和抗体は傷害を軽減させ、外因性 IL-1 $\beta$ の投与は、逆に傷害を増悪させた。Caspase-1 および NLRP3 欠損マウスでは、インドメタシン投与後の成熟型 IL-1 $\beta$ の発現亢進が抑制され、傷害が軽減したが、これらの欠損マウスにおける傷害に対する抵抗性は外因性 IL-1 $\beta$ の投与により消失した。TLR4 欠損マウスにおいても傷害抵抗性が認められ、IL-1 $\beta$ 、NLRP3 mRNA 発現や活性型 caspase-1、成熟型 IL-1 $\beta$ の発現は抑制された。一方、TLR4 のリガンドである LPS 投与によりそれらの炎症関連分子の発現は亢進し、傷害は増悪した。また、P2X<sub>7</sub>受容体拮抗薬や ATP 消去薬の投与は、IL-1 $\beta$ 、NLRP3 mRNA や IL-1 $\beta$ 前駆体の発現には影響を与えなかったが、活性型 caspase-1 と成熟型 IL-1 $\beta$ の発現亢進を抑制し、小腸傷害を軽減させた。

### 【結論】

NSAID 起因性小腸傷害の発生機序に、TLR4 および P2X<sub>7</sub>を介した NLRP3 インフラマソームの活性化と、それに引き続く成熟型 IL-1 $\beta$ の産生亢進が重要な役割をはたしている可能性が示唆された。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

非ステロイド系抗炎症薬 (NSAID) 起因性小腸傷害の発症に interleukins (ILs)などの炎症性サイトカインが関与していることが知られている。インフラマソームは、caspase-1 活性化により IL-1 $\beta$ 前駆体を成熟型 IL-1 $\beta$ に変換し、細胞外への分泌を誘導する、細胞質内タンパク質複合体である。本研究は、NSAID 起因性小腸傷害における IL-1 $\beta$ と NLRP3 インフラマソームの役割について検討したものである。

方法は、マウスにインドメタシンを投与し NSAIDs 小腸傷害を惹起した。活性型 caspase-1 と成熟型 IL-1 $\beta$ の発現は Western Blotting 法により検討した。

その結果、インドメタシンの投与は小腸に潰瘍性病変を惹起させ、IL-1 $\beta$ 、NLRP3 インフラマゾーム mRNA および活性型 caspase-1、成熟型 IL-1 $\beta$ の発現を増加させた。IL-1 $\beta$ 中和抗体は傷害を軽減させ、外因性 IL-1 $\beta$ の投与は傷害を増悪させた。Caspase-1 および NLRP3 欠損マウスでは、インドメタシン投与後の成熟型 IL-1 $\beta$ の発現亢進が抑制され、傷害が軽減したが、これらの欠損マウスにおける傷害に対する抵抗性は外因性 IL-1 $\beta$ の投与により消失した。TLR4 欠損マウスにおいても傷害抵抗性が認められ、IL-1 $\beta$ 、NLRP3 mRNA 発現や活性型 caspase-1、成熟型 IL-1 $\beta$ の発現は抑制された。一方、TLR4 のリガンドである LPS 投与によりそれらの炎症関連分子の発現は亢進し、傷害は増悪した。また、P2X7 受容体拮抗薬や ATP 消去薬の投与は、IL-1 $\beta$ 、NLRP3 mRNA や IL-1 $\beta$  前駆体の発現には影響を与えなかったが、活性型 caspase-1 と成熟型 IL-1 $\beta$ の発現亢進を抑制し、小腸傷害を軽減させた。

以上のことから、NSAID 起因性小腸傷害の発生機序に、TLR4 および P2X7 を介した NLRP3 インフラマゾームの活性化と、それに引き続く成熟型 IL-1 $\beta$ の産生亢進が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

この成績は、NSAIDs 起因性小腸傷害の発生機序を明らかにしたものであり、治療法の開発に寄与する知見であることから、著者は博士（医学）の学位を授与されるに値するものと判定された。